

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2003-114229
(P2003-114229A)

(43) 公開日 平成15年4月18日 (2003.4.18)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 33/543	5 2 1	G 0 1 N 33/543	5 2 1 2 G 0 4 2
	5 1 1		5 1 1 Z
31/20		31/20	
37/00	1 0 1	37/00	1 0 1

審査請求 未請求 請求項の数12 O L (全 19 頁)

(21) 出願番号 特願2001-307946(P2001-307946)

(22) 出願日 平成13年10月3日 (2001.10.3)

(71) 出願人 000005968

三菱化学株式会社

東京都千代田区丸の内二丁目5番2号

(72) 発明者 磯村 哲

神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

三菱化学株式会社内

(72) 発明者 ▲高▼山 英士

神奈川県横浜市青葉区鴨志田町1000番地

三菱化学株式会社内

(74) 代理人 100092978

弁理士 真田 有

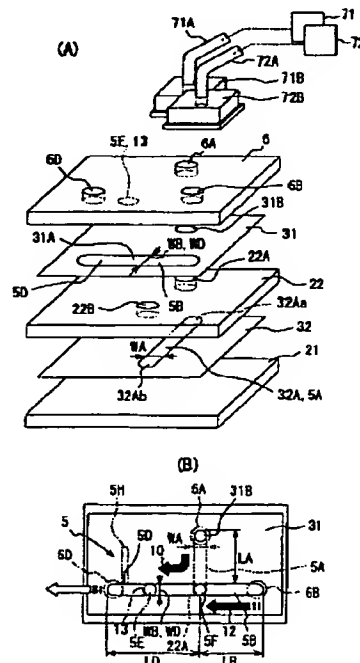
Fターム(参考) 2C042 AA01 BD19 CB03 FB05 HA02
HA07

(54) 【発明の名称】 マイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及び測定方法

(57) 【要約】

【課題】 マイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及び測定方法において、製作を簡便化でき、測定を効率的且つ精度良く行なえ、さらに汎用性を拡大できるようにする。

【解決手段】 検体10中の測定対象物を測定するためのマイクロチャネルチップであって、チップ本体と、該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第1流路5Aと、該チップ本体に設けられ該測定対象物と特異的に結合する第1の特異的結合物質を有する標識物質12を流通させる微小な第2流路5Bと、該チップ本体に設けられ第1流路5A及び第2流路5Bが集合して形成される微小な反応流路5Dと、反応流路5Dに設けられ該測定対象物と特異的に結合する第2の特異的結合物質が固定された反応部位5Eとをそなえて構成され、第1流路5A、第2流路5B及び反応流路5Dが立体的に配置されている。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、

チップ本体と、

該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第 1 流路と、

該チップ本体に設けられ該測定対象物と特異的に結合する第 1 の特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第 2 流路と、

該チップ本体に設けられ該第 1 流路及び該第 2 流路が集合して形成される微小な反応流路と、

該反応流路に設けられ該測定対象物と特異的に結合する第 2 の特異的結合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、

該第 1 流路、該第 2 流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴とする、マイクロチャンネルチップ。

【請求項 2】 検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、

チップ本体と、

該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第 1 流路と、

該チップ本体に設けられ該測定対象物の競合物質を有する標識物質を流通させる微小な第 2 流路と、

該チップ本体に設けられ該第 1 流路及び該第 2 流路が集合して形成される微小な反応流路と、

該反応流路に設けられ該測定対象物と該競合物質とが競合して特異的に結合する特異的結合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、

該第 1 流路、該第 2 流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴とする、マイクロチャンネルチップ。

【請求項 3】 検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、

チップ本体と、

該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第 1 流路と、

該チップ本体に設けられ該測定対象物と該測定対象物の競合物質とが競合して特異的に結合する特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第 2 流路と、

該チップ本体に設けられ該第 1 流路及び該第 2 流路が集合して形成される微小な反応流路と、

該反応流路に設けられ該競合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、

該第 1 流路、該第 2 流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴とする、マイクロチャンネルチップ。

【請求項 4】 該第 1 流路と該第 2 流路とが略鉛直方向に沿って相対的に接近／集合し該反応流路を形成するように形成されていることを特徴とする、請求項 1～3 の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップ。

【請求項 5】 該チップ本体が、複数の積層部材を積層することにより形成されたことを特徴とする、請求項 1

～4 の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップ。

【請求項 6】 検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、

チップ本体と、

該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第 1 流路と、

該チップ本体に設けられ該測定対象物に特異的に結合する特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第 2 流路と、

10 該チップ本体に設けられ該測定対象物に特異的に結合する連結物質を流通させる微小な第 3 流路と、

該チップ本体に設けられ、該第 1 流路、該第 2 流路及び該第 3 流路が集合して形成される微小な反応流路と、

該反応流路に設けられ該連結物質と特異的に結合する固定化物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、該第 1 流路、該第 2 流路、該第 3 流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴とする、マイクロチャンネルチップ。

【請求項 7】 該第 1 流路、該第 2 流路が略鉛直方向に沿って相対的に接近／集合し該反応流路を形成するように形成されていることを特徴とする、請求項 6 記載のマイクロチャンネルチップ。

【請求項 8】 該チップ本体が、複数の積層部材を積層することにより形成されたことを特徴とする、請求項 6 又は 7 記載のマイクロチャンネルチップ。

【請求項 9】 請求項 1～5 の何れか 1 項に記載のマイクロチャンネルチップと、

該マイクロチャンネルチップにおける該検体及び該標識物質の流通を制御する流通制御手段と、

30 該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう測定手段とをそなえて構成されていることを特徴とする、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置。

【請求項 10】 請求項 6～8 の何れか 1 項に記載のマイクロチャンネルチップと、

該マイクロチャンネルチップにおける該検体、該標識物質及び該連結物質の流通を制御する流通制御手段と、

該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう測定手段とをそなえて構成されていることを特徴とする、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置。

40 【請求項 11】 請求項 1～5 の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップを使用した測定方法であって、

該第 1 流路での該検体の流通、及び該第 2 流路での該標識物質の流通を開始して、該反応流路において該検体及び該標識物質を混合させる第 1 のステップと、

該検体及び該標識物質の混合物を該反応流路の該反応部位と接触させる第 2 のステップと、

該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう第 3 のステップとをそなえて構成されていることを特徴とする、マイクロチャンネルチップを使用した測定方法。

50 【請求項 12】 請求項 6～8 の何れかの項に記載のマ

マイクロチャネルチップを使用した測定方法であって、
該第1流路での該検体の流通、該第2流路での該標識物質の流通、及び該第3流路での該連結物質の流通を開始して、該反応流路において該検体、該標識物質及び該連結物質を混合させる第1のステップと、
該検体、該標識物質及び該連結物質の混合物を該反応流路の該反応部位と接触させる第2のステップと、
該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう第3のステップとをそなえて構成されていることを特徴とする、マイクロチャネルチップを使用した測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、抗原抗体反応のような特異的な反応を利用して検体中の測定対象物の量を測定するための、マイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及びマイクロチャネルチップを使用した測定方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より、抗体-抗原反応を利用した免疫測定のように、検体中の測定対象物を測定するための技術が開発されている。このような技術としては、例えば、イムノクロマトグラフ法がある。イムノクロマトグラフの基本原理は次の通りである。すなわち、クロマトグラフ媒体（例えばニトロセルロース膜等の多孔質膜）において、マーカにより標識された物質（標識物質）が固定された第1部位と、測定対象物に特異的に結合する特異的結合物質が固定化された第2部位とを形成し、測定対象物を有する液体試料を、第1部位に供給して、測定対象物と標識物質とを反応させる。そして、この反応により生じた測定対象物と標識物質との複合物を、毛細管現象を利用して第2部位に移動させて、この第2部位に、特異的結合物質-測定対象物-標識物質の複合体を形成させ、固定化された標識物質による発色に基づいて測定対象物量を測定するのである。

【0003】このようなイムノクロマトグラフの原理を応用した技術の一例としては、特開平5-133956号公報に開示された技術（従来技術1）や特開平9-184840号公報に開示された技術（従来技術2）がある。従来技術1では、移動層を構成するクロマトグラフ媒体上における標識粒子の展開移動を、酸素原子含有極性基を有するビニル系水溶性ポリマの存在下において行なわせるようにしている。これにより、標識粒子を確実に且つ速やかに展開移動させることができ、さらに、検出試薬による標識粒子の感作による効果が長期間持続して標識粒子と測定対象物との反応が確実に生じるようになるので、試料中の測定対象物の濃度が低い場合でも短時間内に且つ確実に測定対象物を検出できる。

【0004】また、従来技術2では、標識物質と特異的結合物質とを第1部分の液層中で反応させて複合体を液層中で形成させ、この複合体を毛細管現象により第2部

分に運ばせて判定部に捕捉させ、判定部における標識物質に由来する発色の程度に基づいて測定対象物量を測定するようになっており、このように標識物質と特異的結合物質とを液層中で反応させることにより、かかる反応に要する時間を短縮できるようにしている。

【0005】さて、上記のように毛細管現象を利用して測定対象物を流通させるイムノクロマトグラフ法に対し、圧力制御や電気浸透力によって測定対象物の流通を制御しつつ測定を行ないうる測定方法として、内壁に特異的結合物質が固定されたキャピラリー内に検体を流通させる技術がある。かかる技術としては、例えば、特開昭60-133368号公報に開示された技術（従来技術3）や、Biosensors & Bioelectronics 13 (1998) 825-830 (A multi-band capillary immunosensor, K. Misjakos, S. E. Kakabakos) に開示された技術（従来技術4）がある。

【0006】従来技術3では、標識物質を捕捉する標識物捕捉物質を固定した不溶性担体及び標識免疫反応試薬を保持させた不溶性担体をキャピラリー内に充填し、このキャピラリー内に検体を吸入して免疫反応を行なわせ、反応生成物又は標識免疫反応試薬を標識物捕捉物質と結合させて不動化し、不動化された標識物質を介して検体に含まれる測定対象物の量を測定するようになっている。

【0007】従来技術4では、特異的結合物質がコーティングされたキャピラリー内に、蛍光標識された測定対象物を含む検体を充填し、特異的結合物質と測定対象物とを反応させた後、未反応物質を洗い流し、このキャピラリーに特定の波長の光線をキャピラリーの軸方向に対して略垂直に照射し、キャピラリーの端部から測定される蛍光量により、検体中の測定対象物量を測定するようになっている。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上述した従来技術1、2のようなイムノクロマトグラフ法では、検体の流通を毛細管現象を利用して行なわせているため、検体の流速を、検体中の測定対象物、標識物質及び特定結合物質における反応に適した所定の流速に制御できないという課題がある。さらに、測定対象物の展開の場となるクロマトグラフ媒体は一般的に多孔質膜により構成されることが多く、多孔質膜は、透明性が低く、また、分光分析における光の散乱が大きいと、特異的対象物と測定対象物との反応物量を正確に測定するのが困難であるという課題がある。

【0009】また、上述した従来技術3、4のようにキャピラリー内に検体を流通させる技術では、キャピラリーの横断面は閉断面であるため、キャピラリー内の所定の箇所に限定して、標識物質や特異的結合物質を固定化することは困難であり、同様に、分析系に適した表面処理をキ

キャピラリー内壁に施工するのが困難であるため、製作に手間が掛かってしまうという課題がある。また、閉空間であるキャピラリー内に特異的結合物質を固定化する方法としては、例えば光反応を利用したものがあり、この方法では、キャピラリー内に特定の光を照射して特異的結合物質を固定化できるようになっている。しかしながら、この方法では、キャピラリーの外壁をなすチップ基板が透過性のものに限定されてしまうという課題がある。

【0010】また、PCT-WO93/24231号公報には、チップ基板上に検体を流通させるための溝部

(バリア部)を設け、この溝部において特異結合物質及び標識物質を所定位置に固定化した後、チップ基板上に蓋部を積載して溝部を閉断面の横断面を有するキャピラリーとして構成する技術が開示されている。この技術では、溝部の形状(深さや幅長や経路等)を詳細に設定することにより、検体中の測定対象物、特異結合物質及び標識物質間における反応に対して溝部内の検体の流速を最適化するようにしている。また、溝部に蓋部を積載してキャピラリーを構成する前に、特異結合物質及び標識物質を開放状態の溝部に固定するので、製作を容易に行なえる。

【0011】しかしながら、この技術では、検体中の測定対象物の種類に応じて(即ち、測定対象物の種類毎に)、検体の流速が最適な物となるように溝部の形状を設定/製作する必要があるため、汎用性が極めて低いという課題がある。また、この他、公知の技術として、チップ基板上に設けられた一本の溝に、特異的結合物質を固定化した反応部が形成されたマイクロチャンネルチップがある。この技術では、この溝に、先ず、検体を流して、反応部において検体中の測定対象物と特異的結合物質との複合体を生成させ(第1のステップ)、その後、溝に標識物質を流通させて、反応部において測定対象物-特異的結合物質-標識物質の複合体を生成させ(第2のステップ)、反応部に結合した標識物質量を測定して測定対象物量を測定する技術がある。しかしながら、この技術では、先ず検体を流通させた後、標識物質を流通させるので、操作ステップとして2ステップ必要となり、作業効率が悪いという課題がある。

【0012】また、一般的に、液相と固相との反応の速度は、液相と液相との反応の速度に比べて極端に遅い。上記技術では、第1のステップでは、反応部に固定された特異的結合物質(固相)と検体(液層)とが反応し、また、第2のステップでは、反応部に固定された特異的結合物質及び検体中の測定対象物の複合体(固相)と、標識物質(液層)とが反応する。つまり、液相と固相との反応が2回必要になるため、測定に要する反応時間が長く、効率が悪いという課題がある。

【0013】さらに、一つの溝を、検体の流路及び標識物質の流路として兼用するため、流路内における検体の流速と標識物質の流速とを最適なものに両立するのが困

難であり、測定効率が低くなってしまう場合もある。また、上記従来技術では、何れも、測定対象物の種類に応じて特異的結合物質を選択し、この特異的結合物質を、クロマトグラフ媒体やチップ基板等に固定化させる必要がある。このため、このような測定用の媒体を測定対象物の種類毎に個別に製造しなければならず、この点でも汎用性が低いという課題がある。

【0014】本発明は、このような課題に鑑み創案されたもので、マイクロチャンネルチップの製作を簡便化でき、測定を効率的且つ精度良く行なえ、さらに汎用性を拡大できるようにした、マイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法を提供することを目的とする。

【0015】

【課題を解決するための手段】このため、請求項1記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、チップ本体と、該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第1流路と、該チップ本体に設けられ該測定対象物と特異的に結合する第1の特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第2流路と、該チップ本体に設けられ該第1流路及び該第2流路が集合して形成される微小な反応流路と、該反応流路に設けられ該測定対象物と特異的に結合する第2の特異的結合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、該第1流路、該第2流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴としている。

【0016】請求項2記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、チップ本体と、該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第1流路と、該チップ本体に設けられ該測定対象物の競合物質を有する標識物質を流通させる微小な第2流路と、該チップ本体に設けられ該第1流路及び該第2流路が集合して形成される微小な反応流路と、該反応流路に設けられ該測定対象物と該競合物質とが競合して特異的に結合する特異的結合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、該第1流路、該第2流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴としている。

【0017】請求項3記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、チップ本体と、該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第1流路と、該チップ本体に設けられ該測定対象物と該測定対象物の競合物質とが競合して特異的に結合する特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第2流路と、該チップ本体に設けられ該第1流路及び該第2流路が集合して形成される微小な反応流路と、該反応流路に設けられ該競合物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、該第1流路、該第2流路及び該反応流路が立体的に配置

されたことを特徴としている。

【0018】請求項4記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、請求項1～3の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップにおいて、該第1流路と該第2流路とが略鉛直方向に沿って相対的に接近／集合し該反応流路を形成するように形成されていることを特徴としている。請求項5記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、請求項1～4の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップにおいて、該チップ本体が、複数の積層部材を積層することにより形成されたことを特徴としている。

【0019】請求項6記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、検体中の測定対象物を測定するためのマイクロチャンネルチップであって、チップ本体と、該チップ本体に設けられ該検体を流通させる微小な第1流路と、該チップ本体に設けられ該測定対象物に特異的に結合する特異的結合物質を有する標識物質を流通させる微小な第2流路と、該チップ本体に設けられ該測定対象物に特異的に結合する連結物質を流通させる微小な第3流路と、該チップ本体に設けられ、該第1流路、該第2流路及び該第3流路が集合して形成される微小な反応流路と、該反応流路に設けられ該連結物質と特異的に結合する固定化物質が固定された反応部位とをそなえて構成され、該第1流路、該第2流路、該第3流路及び該反応流路が立体的に配置されたことを特徴としている。

【0020】請求項7記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、請求項6記載のマイクロチャンネルチップにおいて、該第1流路、該第2流路が略鉛直方向に沿って相対的に接近／集合し該反応流路を形成するように形成されていることを特徴としている。請求項8記載の本発明のマイクロチャンネルチップは、請求項6又は7記載のマイクロチャンネルチップにおいて、該チップ本体が、複数の積層部材を積層することにより形成されたことを特徴としている。

【0021】請求項9記載の本発明の測定装置は、請求項1～5の何れか1項に記載のマイクロチャンネルチップと、該マイクロチャンネルチップにおける該検体及び該標識物質の流通を制御する流通制御手段と、該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう測定手段とをそなえて構成されていることを特徴としている。請求項10の本発明の測定装置は、請求項6～8の何れか1項に記載のマイクロチャンネルチップと、該マイクロチャンネルチップにおける該検体、該標識物質及び該連結物質の流通を制御する流通制御手段と、該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう測定手段とをそなえて構成されていることを特徴としている。

【0022】請求項11の本発明の測定方法は、請求項1～5の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップを使用した測定方法であって、該第1流路での該検体の流通、及び該第2流路での該標識物質の流通を開始して、該反応流路において該検体及び該標識物質を混合させる

第1のステップと、該検体及び該標識物質の混合物を該反応流路の該反応部位と接触させる第2のステップと、該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう第3のステップとをそなえて構成されていることを特徴としている。

【0023】請求項12の本発明の測定方法は、請求項6～8の何れかの項に記載のマイクロチャンネルチップを使用した測定方法であって、該第1流路での該検体の流通、該第2流路での該標識物質の流通、及び該第3流路での該連結物質の流通を開始して、該反応流路において該検体、該標識物質及び該連結物質を混合させる第1のステップと、該検体、該標識物質及び該連結物質の混合物を該反応流路の該反応部位と接触させる第2のステップと、該反応部位に結合した該標識物質に関する測定を行なう第3のステップとをそなえて構成されていることを特徴としている。

【0024】

【発明の実施の形態】以下、図面を参照して本発明の実施の形態について説明する。なお、以下でいう流路が立体的に配置されたとは、第1流路、第2流路及び反応流路（第4実施形態及び第5実施形態ではさらに第3流路）が同一水平面内に完全には配置されていないこと、換言すれば、第1流路、第2流路及び反応流路（第4実施形態及び第5実施形態ではさらに第3流路）の少なくとも1つの流路において、少なくとも該流路の一部が上記水平面から外れた位置にあることを意味する。

（A）第1実施形態の説明

まず、本発明の第1実施形態としてのマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について説明する。図1～図3は本実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について示す図である。

【0025】本実施形態のマイクロチャンネルチップ1は、図1（A）、（B）に示すように、チップ基板21、膜状部材32、中間基板22、膜状部材31及びインジェクションボード（蓋部、被覆部材）6とを下からこの順に積層／重合して構成されており、これらの複数（ここでは5個）の積層部材21、32、22、31、6によりチップ本体が形成され、また、このチップ本体に後述する閉断面形状の微小流路（流路5A～5Dからなる）5が立体的に配置されている。

【0026】基板21、22及びインジェクションボード6は、ここでは、厚さ1mmのポリメタクリル酸メチル（PMMA）の板を60mm×40mmに切断してそれぞれ製作されている。また、膜状部材31、32には、厚さ約20μm（＝流路5A～5Dの深さ）、幅40mmの市販の紙製両面テープがそれぞれ使用されている。これにより、膜状部材32を介して基板21、22が接着され、膜状部材31を介して中間基板22とインジェクションボード6とが接着され、この結果、積層部

材21, 32, 22, 31, 6が一体に組み付けられることとなる。

【0027】また、膜状部材31には切り抜き部31Aが貫設され、膜状部材32には切り抜き部32Aが貫設されている。中間基板22には穴部22A, 22Bが設けられており、これらの穴部22A, 22Bは、中間基板22が膜状部材32に貼り合わされた際に、下方の膜状部材32の切り抜き部32Aの両端32Aa, 32Abに接続されるように位置設定されている。

【0028】さらに、穴部22Bは、上方に膜状部材31が貼り付けられた際に、この膜状部材31の切り抜き部31Aの所定位置（図1中で右端から30mm）に接続される。また、穴部22Aは、膜状部材31に設けられた穴部31Bに接続され、この穴部31Bは、インジェクションボード6が上部に貼り付けられた際にインジェクションボード6の穴部6Aに接続されるようになっている。

【0029】加えて、切り抜き部31Aの両端部は、上部にインジェクションボード6が取り付けられた際にインジェクションボード6の穴部6D, 6Bに接続されるようになっている。穴部6Aは、検体10を注入するための注入部であり、穴部6Bは標識物質12を注入するための注入部であり、穴部6Dは、検体10や標識物質12の混合物を排出するために排出部6Dである。

【0030】このような構成により、注入部6A、穴部31B、穴部22A、切り抜き部32A、穴部22Bから検体10を流通させる流路（第1流路）5Aが形成され、注入部6B、及び切り抜き部31Aの穴部22Bとの接続部5Fよりも上流側（図1（a）、（b）中で右側）から標識物質12を流通させるための流路（第2流路）5Bが形成され、切り抜き部31Aの上記接続部5Fよりも下流側（図1（a）、（b）中で左側）により、流路5A, 5Bが合流してなる反応流路5Dが形成される。さらに、反応流路5Dに面してインジェクションボード6には検体10中の測定対象物と特異的に結合する第2の特異的結合物質13が固定化されている。即ち、反応流路5Dには第2の特異的結合物質13が固定化された反応部位5Eが設けられている。

【0031】このように、流路5B, 5Dの主要部は膜状部材31に形成され、流路5Aの主要部は膜状部材32に形成されている。つまり、流路5B, 5Dと流路5Aとが異なる水平面に形成された立体的な配置となっているのである。さて、測定対象物が、同時に同種類の特定結合物質を2個以上結合できる場合、又は、同時に互いに異なる種類の特定結合物質を2種類以上結合できる場合には、反応部位5Eに固定化された特異的結合物質と、特異的結合物質を有する標識物質とに同時に結合できるため、測定に有利な物性を有する標識物質を介して測定対象物を測定できるようになっている。

【0032】つまり、図2に示すように、流路5Bに注

入される標識物質12は、検体中の測定対象物と特異的に結合する特異的結合物質（第1の特異的結合物質）12Aを有し、第1流路5Aから注入された検体中に含まれる測定対象物11と、流路5A, 5Bの合流部位（混合部位）5Fにおいて特異的結合物質12Aを介して結合する。さらに、この測定対象物11と標識物質12との結合物質は、反応流路5Dの反応部位5Eにおいて測定対象物11を介して特異的結合物質（第2の特異的結合物質）13と結合する。

【0033】したがって、反応部位5Eには、標識物質12（特異的結合物質12A）、測定対象物11及び特異的結合物質13からなる複合体が固定されるので、測定対象物11が例えば透明であるため測定対象物11を直接測定が困難な場合であっても、標識物質12を介して測定対象物11の量を容易に測定できるようになっている。

【0034】なお、インジェクションボード6を蓋部としてマイクロチャンネルチップ1に積載して流路5を閉断面形状とすることにより、この流路5内において後述するシリンジポンプ71, 72により検体10、標識物質12を安定して流通させることができるようになっている。また、各流路5A, 5B, 5Dの流路幅WA, WB, WDは、ここでは2mmに設定されているが、通常0.1μm以上、3mm以下、好ましくは1μm以上、1mm以下である。また、流路長さLA, LBは、ここではそれぞれ14mmに設定されているが、通常100μm以上、100mm以下、好ましくは1mm以上、50mm以下である。また、流路長さLDに関しては、ここでは30mmに設定されているが、通常1mm以上、1000mm以下、好ましくは3mm以上、500mm以下である。

【0035】また、膜状部材31の穴部31B、中間基板22の穴部22A, 22Bは、それぞれ幅2mmの流路5にあわせて直径2mmに形成されている。以下、基板21, 22、膜状部材31, 32、インジェクションボード6、測定対象物11、特異的結合物質13について、さらに説明する。まず、基板21, 22及びインジェクションボード6（以下、基板21, 22, 6という）について説明すると、基板21, 22, 6の材質には、上述したように、ここではポリメタクリル酸メチルを使用しているが、固相として十分に堅固なものであればこれに限定されない。好ましくは、ガラス及び樹脂であるが、金属や半導体やセラミックス等を使用することもできる。また、基板21, 22, 6は、膜状部材31, 32とともに流路5を構成するので、検体10や標識物質12に対して安定した材質であることが好ましい。

【0036】さらに、構成する基板21, 22, 6の流路5を構成する面に所定の表面処理を施すようにしても良い。このような表面処理は、検体10や標識物質12

(後述する第4実施形態及び第5実施形態ではさらに連結物質15)に応じて適宜に施工されるものであって、例えば、基板21, 22, 6が疎水性であり、検体10及び標識物質12(後述する第4実施形態及び第5実施形態ではさらに連結物質15)が水溶性のものであれば、酸・アルカリによる親水処理(表面改質)が考えられる。また、反応部位5Eに固定化される特異的結合物質13が蛋白質であれば、特異的結合物質13を結合すべく、例えば、カルボジイミド、マレイミド、スクシンイミドによる表面処理が行なわれる。さらに、非特異吸着(非特異物質が吸着してしまうこと)を抑制すべく、

例えばアルブミンや界面活性剤や人工高分子による表面処理を行なうようにしても良い。
【0037】或いは、表面処理を行なう代わりに、自己組織化膜、LB膜、無機薄膜又は有機薄膜を基板21, 22, 6の流路5を構成する面に貼り付けて、流路5内において所定の表面物性が得られるようにしても良い。次に、膜状部材31, 32について説明すると、膜状部材31, 32は、ここでは上述したように市販の紙製テープにより構成されているが、樹脂フィルム、紙、金属板、ガラス板等によりなる厚膜又は薄膜であれば、これに限定されない。また、ここでは、膜状部材31, 32は両面に接着剤が塗布された両面テープにより構成して

基板21, 22, 6に貼り合わせるようにしているが、膜状部材31, 32の結合方法は、膜状部材31, 32や基板21, 22, 6等の材質等に応じて適宜選択されるもので、接着剤による接着の他、溶剤・溶解溶媒による貼り合わせ(例えばプライマによる樹脂接合)、拡散接合、陽極接合、共晶接合、熱融着、レーザ溶融、圧着等がある。或いは、膜状部材31, 32、基板21, 22, 6の各相互間に、粘着テープや圧着テープや自己吸着剤を介装するようにしても良い。
【0038】また、膜状部材31, 32、基板21, 22, 6のそれぞれに凹凸を設けこれらの凹凸をはめ込んで結合したり、膜状部材31, 32、基板21, 22, 6をクリップで挟み込んで結合したりする等、物理的に結合しても勿論構わない。また、膜状部材31, 32の厚みは、即ち流路5の深さであり、上限としては、一般的には400 μ m以下であり、好ましくは200 μ m以下である。流路5を流通する検体10及び標識物質12

(後述する第4実施形態及び第5実施形態ではさらに連結物質15)は、流路5の底部に固定された特異的結合物質13と接触し結合するので、流路5が深いほど流路5の底部の特異的結合物質13と接触しない検体10又は標識物質12が増加してしまうため、膜状部材31, 32の厚み(流路5の深さ)を上述のように200 μ m以下に設定するのが反応効率の点から好ましいのである。

【0039】また、膜状部材31, 32の厚み(流路5の深さ)は、膜状部材31, 32の製作の容易性及び流

路5の底部に固定された特異的結合物質13の厚みを考慮すると、0, 1 μ m以上であるのが一般的である。次に、検体10及び測定対象物11について説明する。検体10としては、主に医療診断を目的としたものと環境分析を目的としたものがあり、医療診断用としては、生体由来の血液、体液、尿、涙等であり、環境分析用としては、海や河川の水、大気を溶解させた溶液等である。また、測定対象物11としては、それに対して特異的に結合する物質(特異的結合物質)が存在するものであれば限定されず、例えば、蛋白質、有機物質、脂質、糖、ペプチド、ホルモン、核酸等である。

【0040】次に、特異的結合物質13について説明する。特異的結合物質13は、測定対象物11に応じて適宜決定されるものであり、例えば、イムノグロブリン、その派生物であるF(ab')₂やFab'やFab、レセプタや酵素とその派生物、核酸、天然又は人工のペプチド、人工ポリマ、糖鎖、脂質、無機物質及び有機配位子、ウイルス、薬物等である。

【0041】また、特異的結合物質13のインジェクションボード6への固定化方法としては、特異的結合物質13を物理的にチップ基板2に吸着させる方法と、特異的結合物質13を化学的にチップ基板2に結合させる方法とがある。物理的な固定化方法としては、特異的結合物質13を固相(インジェクションボード6)に直接接触させて固定化する方法と、先ず他の物質を固相に物理的又は化学的に固定化し、この物質を介して特異的結合物質13を固相に吸着させる方法とがある。また、化学的な固定化方法としては、特異的結合物質13を固相に直接結合させる方法、固相の表面に存在する官能基を化学的に活性化させてから特異的結合物質13を結合させる方法、スパーサ分子を物理的又は化学的に固相に結合させこのスパーサ分子を介して特異的結合物質13を固相に結合させる方法がある。

【0042】また、特異的結合物質13をインジェクションボード6(反応流路5D)にスポッティングする方法としては、例えば、スポイトによる滴下、インクジェットプリンタの原理を利用したノズル孔による噴射又は滴下、先細状のピン先による塗布及びスタンプ等がある。さて、本実施形態の測定装置は、図1に示すように、上記マイクロチャネルチップと、流路5における検体10や標識物質12の流通を制御するシリンジポンプ(流通制御手段)71, 72と、反応部位5Eに結合した標識物質12を測定する図示しない測定手段とをそなえて構成される。

【0043】シリンジポンプ71, 72は、外径6mmのシリコンチューブ71A, 72A, PDMS(ポリジメチルシロキサン)材により構成されるプレート71B, 72Bを介してインジェクションボード6の注入口6A, 6Bに接続され、検体10と標識物質12との流通を制御するようになっている。流通制御手段は、検体

10と標識物質12との流通を制御できるものであれば、シリンジポンプに限定されず、例えば、陽圧式ポンプや陰圧式ポンプをインジェクションボード6の注入口6A、6B又は排出口6Dに接続するようにしても良い。

【0044】又は、流通制御手段として、流路5の上流端及び下流端にそれぞれ電極を取り付け、これらの電極に異なる電圧をかけることにより検体10及び標識物質12に電気浸透流を生じさせるようにしても良い。或いは、流通制御手段として、加熱装置をマイクロチャネルチップ1に設け、この加熱装置により流路5に沿って温度勾配を生じさせるようにしても良い。つまり、かかる温度勾配により、流路5に沿って検体10及び標識物質12に比重差を生じさせ、この比重差により検体10及び標識物質12を流通させるのである。

【0045】又は、流通制御手段として、注入口6A、6B及び排出口6Dに電極を取り付けるとともに注入口6A、6B及び排出口6Dの周辺に金属をコーティングすることにより、流路5の検体10及び標識物質12に直流電場をかけてイオン（測定対象物11、標識物質12）を電気泳動させるようにしても良い。この場合、検体10の溶媒や標識物質12の溶媒の移動はないので、インジェクションボード6により流路5を密閉する必要はない。インジェクションボード6を設けない場合、中間基板22に特異的結合物質13を固定して反応流路5Dに反応部位5Eを設ければ良い。

【0046】さらに、流通制御手段は、上述した各方法を複数組み合わせるようになくても良い。測定手段は、標識物質の物性に基づき標識物量を測定するものであれば何ら限定されず、例えば、吸光、蛍光、エバネッセント励起蛍光、燐光、化学発光を測定するものや、表面プラズモン共鳴、水晶振動子等を利用したものや、挙げられる。或いは、標識物質12が酵素等の触媒である場合には、その基質を加えて反応させ、生成物を検出することで測定を行なうこともある。また、光音響測定法（特定の光を照射して、放射される音波を測定することにより物質の量を測定する方法）を用いることも可能である。

【0047】本発明の第1実施形態としてのマイクロチャネルチップ及びマイクロチャネルチップを使用した測定装置は、上述のように構成されているので、以下に示す手順（本発明の第1実施形態としてのマイクロチャネルチップを使用した測定方法）により測定が行なわれる。最初に、標識物質12の調整について説明する。標識物質12は、ここでは、抗ヒトF₁SH- α サブユニット抗体固定化EuLTX（Ab-EuLTX）で構成される。

【0048】先ず、粒径0.21 μ mのEu錯体を含むポリスチレン粒子（EuLTX）を0.05M MES（pH6.0）にて希釈し、1%懸濁液を2mL（ミリ

リットル）調整し、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩（EDC）を加えて室温で1時間反応させた後、この溶液を遠心して未反応のEDCを除去し、所定量V（ここでは2mL）の0.05M MES（pH7.0）でEuLTXを分散させてから、抗ヒトF₁SH- α サブユニット抗体（以下、単に抗体ともいう）を所定量M（ここでは0.8mg）に加え、室温で1時間反応させる。そして、この溶液を遠心して、未反応の抗体を除去し、BSA含有トリス緩衝液（0.3%BSA、0.1M Tris、pH8.0）を加え、粒子を安定化する。この時、抗体濃度C1は0.4mg/mLである（ $C1=M/V=0.8/2=0.4$ ）。

【0049】そして、室温で30分攪拌してから遠心して精製水で洗浄を行なった後、0.05%アジ化ナトリウム液に分散させて、標識物質（Ab-EuLTX）12が調整される。なお、この時点で、未結合の抗体濃度C2は、0.15mg/mLであり、したがって抗体の固定化率Rは62.5%である（ $R=(C1-C2)/C1 \times 100=(0.4-0.15)/0.4 \times 100$ ）。

そして、インジェクションボード6に膜状部材31を貼り合わせた後、インジェクションボード6及び膜状部材31の切り抜き部31Aにより構成される反応流路5Dの所定部位（ここでは、反応流路5Dの下流端から上流側に10mm離隔した位置）に、測定対象物11（ここではhCG（ヒト絨毛性ゴナドトロピン））に特異的に結合する5.0mg/mLの抗hCG抗体を、特異的結合物質13として1 μ L（マイクロリットル）滴下し、常温・常圧で30分乾燥させた後でさらに常温で真空乾燥を15分間行なって反応流路5Dに固定化し、反応部位5Eを形成した。

【0050】そして、膜状部材（両面テープ）32を中心にして中間基板22、膜状部材32、基板21を組み付けた後、これを、反応部位5が形成された上記インジェクションボード6に膜状部材31（両面テープ）を介して組み付け、マイクロチャネルチップを組み立てた。その後、検体10として、6%のウシ血清アルブミン中に調整された11U/mLのhCG標準品を10 μ Lだけ注入口6Aから流路5Aに滴下するとともに、Ab-EuLTXを純水で100倍に希釈して標識物質12を調整し、この標識物質12を10 μ Lだけ注入口6Bから流路5Bに滴下する。次に、各注入口6A、6Bに、プレート71B、72Bを介してシリンジポンプ71、72をそれぞれ接続した後、シリンジポンプ71、72をそれぞれ作動させて、注入口6A、6Bの検体10及び標識物質12を10 μ L/分で反応流路5Dに向けて流通させる。検体10中の測定対象物11と標識物質12とは、合流部位5Fで混合され結合し（第1のステップ）、その後、反応部位5Eに移動して、反応部位5E

に固定された特異的結合物質13とさらに結合する(第2のステップ)。そして、上記手順と同じ手順により、各流路5A、5Bからそれぞれ100 μ Lの純水を50 μ L/分で流通させて流路5を洗浄する。

【0051】そして、図示しない測定装置により反応部位5Eに365nmの波長の紫外線を照射したところ、反応部位5Eに標識物質12に起因した赤色の蛍光が目視により観察され、検体10中の測定対象物11が含まれていることが測定された(第3のステップ)。したがって、本実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロ

チャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法によれば、以下のような利点がある。

【0052】つまり、本発明では、検体10中の測定対象物11と標識物質12との反応(第1のステップ、液相と液相との反応)、及び、測定対象物11及び標識物質12の複合体と、反応部位5Eに固定化された特異的結合物質13との反応(第2のステップ、液相と固相との反応)が行なわれる。これに対し、特異的結合物質が固定された反応部位を有する一本の溝に検体、標識物質をこの順に順次流通させる上述の従来技術により測定を行なおうとすると、反応部位に固定化物質を固定化し、この反応部位(固相)に、測定対象物11及び標識物質12を順次流入させて反応させることとなる。

【0053】即ち、かかる従来技術では、液相と固相との反応を2回行なわせなければならないのに対し、本発明では、液相と固相との反応を1回行なわせるだけで良い。液相と液相との反応は、液相と固相との反応よりも反応速度が高く、したがって、本発明によれば、従来技術に比べ、測定に要する時間を短縮して測定を効率的に行なえるという利点がある。

【0054】また、シリンジポンプ71、72により検体10及び標識物質12の流速を所定流速に制御できるので、検体10及び標識物質12の流速を、検体10中の測定対象物11及び標識物質12の反応に最適な流速にして反応時間を短縮でき、この点からも測定を効率的に行なえるという利点がある。さらに、測定対象物11の種類に応じてシリンジポンプ71、72により流速を適宜に調整することにより、様々な種類の測定対象物11を一つの仕様のマイクロチャンネルチップにより最適な流速下で測定することが可能となる利点がある。

【0055】さらに、シリンジポンプ71、72により、例えば、検体10及び標識物質12の混合物が反応部位5Eに到達する前に一旦流通を停止して、反応部位5Eの特異的結合物質と接触する前に検体10及び標識物質を十分に反応させたり、検体10及び標識物質12の混合物が反応部位5Eに到達した時点で一旦流通を停止して、反応速度の遅い固相(特異的結合物質13)-液層(検体10及び標識物質12の混合物)間の反応の効率を向上させることが可能となる。さらに、本来ならば反応部位5Eで特異的結合物質13に結合する測定対象

物11及び標識物質12が未反応のまま反応部位5Eを通過してしまう可能性がある場合には、シリンジポンプにより、反応部位5Eを通過した測定対象物11及び標識物質12を逆流させて再び反応部位5Eと接触させることも可能である。

【0056】ところで、一般的に標識物質12は検体10に対し分子量が大きく、このため、検体10と標識物質12とは混合しにくい。そこで、本マイクロチャンネルチップ1では、流路5を立体的に形成し、流路5A、5Bを略鉛直方向(略鉛直方向とは鉛直方向に対して)即ち流路深さ方向に沿って接近/集合させる構成として、検体10と標識物質12との混合が十分に行なわれるようにしている。

【0057】つまり、マイクロチャンネルチップでは流路が微細であるため、流路5A、5Bから反応流路5Dに流入した検体10と標識物質12とは二層に分離した状態で反応流路5Dを流通し、検体10と標識物質12との境界面における相互の分子拡散により混合する。したがって、図3(a)の平面図に示すように、流路5A、5B、5Cを同一水平面に形成した場合、検体10と標識物質12との混合は、かかる混合の際に、標識物質12が検体10側に拡散移動する距離(混合距離)D1と、検体10が標識物質12側に拡散移動する距離(混合距離)D2とが短いほど、即ち反応流路5Dの流路幅WDが狭いほど効果的に行なわれる。この一方、反応流路5Dを流れる検体10の流量が多いほど分析感度を向上させることができ、このため、反応流路5Dの断面積を大きくすることが好ましい。

【0058】したがって、混合性能及び分析感度を共に確保しようとする、反応流路5Dの深さを大きくしなければならない。しかし、基板に細く深い流路を形成するのは極めて困難であり、このような流路を製造するためには高価な設備が必要となってしまう、さらには、基板の材質も限定されてしまうため、高精度の測定を行なうべく上記形状に反応流路5Dを構成することは現実的に困難である。

【0059】これに対し、本マイクロチャンネルチップ1では、流路5を立体的に形成し、流路5A、5Bを略鉛直方向(即ち流路深さ方向)に沿って接近/集合させることにより、図3(B)の側面図に示すように混合距離D1、D2は流路深さ方向に沿ったものとなる。したがって、混合距離D1、D2の縮小による混合性能の確保及び流量の確保による分析感度の確保を両立させるためには、反応流路5D(詳細には混合部位5F)の深さを浅くして幅を広くすれば良く、このような形状は安価な設備により容易に製造でき、チップ本体の材質も広い範囲で選択できる。即ち、検体10と標識物質12との混合が十分に行なわれ、高精度の測定を行なえるようなという利点がある。

【0060】また、二次元的な加工を施された積層部材

21, 32, 22, 31, 6を積層してマイクロチャネルチップ1を形成することで、マイクロチャネルチップ1全体としては流路5を3次元的に構成しているため、複雑な3次元形状の流路5を一層容易に製造できるとい
う利点がある。また、上述したように、特異的結合物質13の流路5への固定化が容易であり、測定対象物11及び標識物質12の流通を多様に制御できるので、測定対象物11、及び標識物質12の反応系を、高度に設計でき、また、多様に設定できるという利点もある。

【0061】さらに、流路5は閉断面構造を有してキャピラリとして機能するので、従来から広く使用・開発されているキャピラリを用いた測定方法における分析技術や流路制御等の様々な技術をそのまま流用できるという利点もある。また、従来技術の課題として上述したように、イムノクロマトグラフでは原理的に流路（測定対象物の展開の場）の材質が限定され、キャピラリを用いた技術では特定の物質（例えば特異的結合物質13）をキャピラリ内に固定化するため流路の材質が製作上限定されてしまうが、本実施形態のマイクロチャネルチップ1では、流路5を構成するチップ基板21、22やインジェクションボード6の材質を幅広く選択できる。

【0062】これにより、透過波長やバックグラウンドノイズ等の点で分光測定における最適化が可能であるばかりでなく、例えば、表面プラズモン共鳴のようなチップ基板2に対して表面膜処理を必要とする検出系の使用や、チップ基板2に水晶振動子のような検出素子の組み込みを実現できる。さらに、積層部材21、32、22、31、6によりチップ本体が構成され、これらの積層部材21、32、22、31、6に形成された切り抜き部や穴部により積層部材21、32、22、31、6の相互間に流路5が構成されているので、これらの積層部材21、32、22、31、6を組み付ける前は、未だ反応流路5D（流路5）は開放状態であるため、反応流路5Eを形成する固相壁面（ここではインジェクションボード6の所定箇所）に容易に特異的結合物質13を固定して反応部位5Eを設けられるという利点がある。

【0063】また、ある特殊な条件下での測定を行なうべく、例えば緩衝溶液を検体10に注入させるための緩衝溶液用の流路をさらに設けても良い。また、図1

（B）に二点鎖線で示すように、反応流路5Dにおいて、反応部位5Eの下流側に流路5Hを設けても良い。この流路5Hを適切に設けることにより（具体的には、流路の幅、深さ、反応流路5Dに対する傾斜角度等を適宜設定することにより）、流路5Dと流路5Hとを介して、未反応の検体10、標識物質12を分離して回収することも可能となる。

【0064】また、上述の実施形態では、標識物質12の量を反応部位5Eにおいて測定するようにしているが、検体10及び標識物質12の流通の完了後に、標識物質12を反応部位5Eから分離して回収し、この回収

した標識物質12の量を測定するようにしても良い。標識物質12を反応部位5Eから分離するには、例えば、標識物質12に近似した物質を流して、この物質と標識物質12とが置き換えられるようにすれば良い。

【0065】このような態様が好ましい場合としては、チップ基板2や膜状部材31、32等の材質が分光測定に適していないため、標識物質12をチップ基板2から分離させる必要がある場合である。また、上述の実施形態では、検体10を流通させる流路5Aの幅WAと、標識物質12を流通させる流路5Bの幅WBとを同じ長さに設定しているが、幅WA、WBを相互に異なる長さに設定して各流路5A、5Bとで流路断面積が異なるようにしても良い。流路5Aを流通する検体10と流路5Bを流通する標識物質12とに大きな差がある場合には、このように流路5A、5Bで異なる流路断面積に設定するのが有効である。

【0066】つまり、例えば、100μLの検体10と1μLの標識物質12とをそれぞれ流路5A、5Bに流通させて測定を行なう場合、検体10と標識物質12とを均一に混合させて検体10と標識物質12とを反応させることが精度良く測定を行なう上で重要となる。そして、検体10と標識物質12とを所定の割合で均一に混合させるためには、この場合には、検体10と標識物質12とを単位時間あたりに100:1の割合で混合部位5Fに流入させる、即ち、流路5Aにおける検体10の単位時間あたりの流量（以下、これを流速という）FAと、流路5Bにおける標識物質12の流速FBとの比を100:1にすれば良い（ $FA/FB=100/1$ ）。

【0067】このように検体10の流速FAと標識物質12の流速FBとの比を100:1にするには、流路5Aの幅WAと流路5Bの幅WBとを異なる長さに設定して、流路5Aと流路5Bとで流路断面積が異なるようにすれば良い。これにより、検体10と標識物質12との間で流量に大きな差がある場合でも、検体10と標識物質12とを所定の割合で均一に混合させて精度良く測定を行なうことができるのである。

【0068】これに対して、従来技術として上述したように、特異的結合物質の固定された反応部位を有する一本の溝に、検体、標識物質をこの順に順次流通させる公知技術では、検体中の測定対象物と標識物質とを効率的に反応させて精度良く測定を行なうためには、検体、標識物質が、反応部位と接触して反応しうる時間（＝検体、標識物質が反応部位を通過する時間）を適切なものにそれぞれ設定することが重要となる。

【0069】しかしながら、この従来技術において、特に、例えば上記ケースと同じく100μLの検体と1μLの標識物質とを使用して測定を行なう場合のように検体の量と標識物質の量とに差があり、且つ、検体と標識物質とについて反応部位での反応時間が同程度必要な場合には、検体の流速FA'と標識物質の流速FB'とを

異なるものとする必要がある（この場合、 $F A' : F B' = 100 : 1$ ）。

【0070】例えばシリンジポンプのような流通制御手段を設けることにより、この流通制御手段で検体の流速と標識物質の流速とを個別に制御して、検体の流速 $F A'$ と標識物質の流速 $F B'$ とを異なる値に設定することは可能であるが、本例のように、かかる流速差が極端に大きい場合には、流通制御手段を用いてもこのような広範囲での流通制御は技術的に困難である。

【0071】異なる流路間において、各流路の流路断面積を互いに異なる面積とすることで、同一の流通制御手段により各流路の流速を大きく異なる速度に制御することは一般的に行なわれていることであるが、この公知技術では、検体及び標識物質の流路が共用であるため、当然ながら、検体、標識物質のそれぞれについて流路断面積を変更することはできない。

【0072】これに対し、本マイクロチャンネルチップでは、分岐した流路5A、5Bを有するので、測定に使用される検体10、標識物質12との流量に大きな差がある場合でも、測定を精度良く行なうことが可能である。なお、ここでは、流路5A、5Bの深さは、いずれも膜状部材31、32の厚みで決定されるため、流路幅WA、WBを異なる長さで設定することにより流路5A、5Bで流路断面積が異なるようにしているが、流路をチップ基板2に直接設けるような場合には、流路5A、5Bにおいて、流路深さを変えることにより流路断面積が異なるようにしても良いし、勿論、流路深さ及び流路幅を共に異なる値で設定しても良い。

(B) 第2実施形態の説明

次に本発明の第2実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について説明する。図4及び図5は本実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について示す図である。なお、上記第1実施形態で既に説明したものについては同一の符号を付しその説明を省略する。また、第1実施形態の説明に使用した図1も流用して説明する。

【0073】本実施形態のマイクロチャンネルチップは、第1実施形態のマイクロチャンネルチップと同様に図1に示すように構成され、第1実施形態のマイクロチャンネルチップに対し、第2流路に注入される標識物質の構成が異なる。つまり、第1実施形態のマイクロチャンネルチップは、図2に示すように、標識物質12が第1の特異的物質12Aを有し、反応部位が第2の特異的結合物質により構成されていたのに対し、図4に示すように、本実施形態のマイクロチャンネルチップは、標識物質12'が測定対象物11の競合物質14を有している。

【0074】ここでいう競合物質とは、測定対象物の特異的結合物質に特異的に結合しうるものをいい、また、特異的結合物質とは測定対象物に特異的に結合しうるも

のをいう。つまり、競合物質とは、測定対象物と競合して特異的結合物質と特異的に結合する物質を意味しているのである。競合物質は、一般的には、測定対象物の誘導体や類似体が挙げられるが、測定対象物の特異的競合物質と特異的に結合するものであればこれに限定されず、測定対象物と構造が大きく異なる物質や、測定対象物そのものであっても良い。

【0075】この他は、第1実施形態と同様に構成されるので説明を省略する。本発明の第2実施形態としてのマイクロチャンネルチップ及び測定装置は上述したよう構成されているので、以下に示す手法（本発明の第2実施形態としての測定方法）により測定が行なわれる。最初に、標識物質12'の調整について説明する。標識物質12'は、ここでは、タイロシン固定化EuLTX（Ag-EuLTX）で構成される。

【0076】まず、粒径0.21 μ mのEu錯体を含むポリスチレン粒子（EuLTX）を1%に調整し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩（EDC）を加えて1時間反応させた後、未反応のEDCを遠心にて除去し、タイロシン溶液を加えて1時間反応させる。そして、未反応のタイロシンを遠心にて除去し、BSAを加えて粒子を安定化する。

【0077】そして、30分反応させた後に遠心して精製水で洗浄を行なった後、0.05%アジ化ナトリウム液に分散させて、標識物質（Ag-EuLTX）12'が調整される。そして、図1（A）において、インジェクションボード6に膜状部材31を貼り合わせた後、インジェクションボード6及び膜状部材31の切り抜き部31Aにより構成される反応流路5Dの所定部位（ここでは、反応流路5Dの下流端から上流側に10mm離隔した位置）に、抗タイロシン（マウス1gG）の特異的結合物質13として滴下し、常温・常圧で30分間乾燥させた後、さらに常温で真空乾燥を15分間行なって反応流路5Dに固定化し反応部位5Eを形成する。

【0078】そして、膜状部材（両面テープ）32を中心にして中間基板22、膜状部材32、基板21を組み付けた後、これを、反応部位5Eが形成された上記インジェクションボード6に膜状部材31（両面テープ）を介して組み付け、マイクロチャンネルチップを組み立てた。その後、検体10として、タイロシン標準品を100 μ Lだけ注入口6Aから流路5Aに滴下するとともに、Ag-EuLTXを純水で100倍に希釈して標準物質12'を調整し、この標準物質12'を100 μ Lだけ注入口6Bから流路5Bに滴下する。

【0079】次に、各注入口6A、6Bに、プレート71B、72Bを介してシリンジポンプ71、72をそれぞれ接続した後、シリンジポンプ71、72をそれぞれ作動させて、注入口6A、6Bの検体10及び標識物質12'を10 μ L/分で反応流路5Dに向けて流通させる。図4に示すように、検体10中の測定対象物11と

標識物質 12' とは、合流部位 5 F で混合され（第 1 のステップ）、その後、反応部位 5 E 上に移動して、測定対象物 11 と標識物質 12' とが競合的に反応部位 5 E に固定化された特異的結合物質 13 と結合する（第 2 のステップ）。

【0080】この際、検体中の測定対象物濃度が低いほど、多くの競合物質 14 が特異的結合物質 13 を介して標識物質 12' と結合することとなる。つまり、検体中の測定対象物濃度が低いほど、競合物質 14 を介して反応部位 5 E に固定される標識物質 12' の量が多くなるのである。そして、上記手順と同じ手順により、各流路 5 A、5 B に 100 μ L の純水を注入して流路 5 を洗浄した後、図示しない測定装置により、反応部位 5 E に波長が 365 nm の紫外線を照射して、反応部位 5 E に結合した標識物質 12' に起因する赤色の蛍光量の測定を行ない、この蛍光量に基づいて検体 10 中の測定対象物 11 の濃度を測定した（第 3 のステップ）。

【0081】したがって、標識物質 12' を介して測定対象物 11 の濃度を測定することができ、測定対象物 11 が例えば透明であるため測定対象物 11 を直接測定が困難な場合であっても、標識物質 12' を介して測定対象物 11 の量を容易に測定できる。なお、このように、標識物質 12' を介して測定対象物 11 の濃度を測定する場合、検体中の測定対象物 11 の濃度 C と検出シグナル（反応部位 5 E に固定化された標識物質質量を表すシグナル）のレベル L との相関関係は図 5 に示すようになる。つまり、上記の測定対象物濃度 C が高いほど検出シグナル S は低いレベルで検出されることとなる。

【0082】このように標識物質 12'（詳細には競合物質 14）と測定対象物 11 とを競合させて特異的結合物質 13 に結合させることにより測定対象物 11 に関する測定を行なうことを競合法という。一方、図 2 を用いて説明した上記第 1 実施形態の測定方法では標識物質と測定対象物とを競合させずに測定が行なわれるので、この測定方法を競合法と対比させて非競合法という。

【0083】なお、上記競合法において、測定対象物、特異的結合物質及び競合物質の混合や反応の順序によっては、一般に阻害法と呼ばれることもあるが、ここでは阻害法も含めて競合法と称している。本実施形態のマイクロチャンネルチップによれば、第 1 実施形態のマイクロチャンネルチップの利点に加え、以下のような利点がある。

【0084】つまり、図 2 を用いて説明した第 1 実施形態（非競合法）では、複数の特異的結合物質と同時に結合しうる測定対象物だけしか測定できないのに対し、本マイクロチャンネルチップでは、上述したように競合法により測定が行なわれ、図 4 に示すように測定対象物 11 は反応部位 5 E に固定化された特異的結合物質 13 とだけ結合できればよい。即ち、1 以上の特異的結合物質と同時に結合しうる測定対象物であれば測定を行なえる。

したがって、より多種の測定対象物について測定を行なえるという利点がある。

（C）第 3 実施形態の説明

次に本発明の第 3 実施形態について説明する。図 6 は本実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について示す図である。なお、上記各実施形態で既に説明したものについては同一の符号を付しその説明を省略する。また、各実施形態の説明に使用した図 1 も流用して説明する。

【0085】上述した第 2 実施形態のマイクロチャンネルチップでは、図 4 に示すように、反応部位 5 E に特異的結合物質 13 が固定され、第 2 流路 5 B からは、競合物質 14 を有する標識物質 12 が注入されるようになっている。これに対し、図 6 に示すように、本実施形態のマイクロチャンネルチップでは、反応部位 5 E に競合物質 14 が固定され、第 2 流路 5 B からは、特異的結合物質 12 A を有する標識物質 12 が注入されるようになっている。

【0086】その他のマイクロチャンネルチップ及び測定装置の構成は第 1 実施形態と同じく図 1 に示すように構成されており、その説明を省略する。本発明の第 3 実施形態としてのマイクロチャンネルチップは上述のように構成されているので、以下に示す手順（本発明の第 3 実施形態としての測定方法）により測定が行なわれる。

【0087】最初に、標識物質 12 の調整について説明する。標識物質 12 は、ここでは、抗タイロシン抗体固定化 EuLTX（Ab-EuLTX）で構成される。先ず、粒径 0.21 μ m の Eu 錯体を含むポリスチレン粒子（EuLTX）を 1% に調整し、1-エチル-3（3-ジメチルアミノプロピル）-カルボジイミド塩酸塩（EDC）を加えて 1 時間反応させた後、未反応の EDC を遠心にて除去し、抗タイロシン抗体溶液を加えて 1 時間反応させる。そして、未反応の抗タイロシン抗体を遠心にて除去し、BSA を加えて粒子を安定化する。

【0088】そして、30 分反応させた後に遠心して精製水で洗浄を行なった後、0.05% アジ化ナトリウム液に分散させて、標識物質（Ab-EuLTX）12 が調整される。次に、図 1（A）において、インジェクションボード 6 に膜状部材 31 を貼り合わせた後、インジェクションボード 6 及び膜状部材 31 の切り抜き部 31 A により構成される反応流路 5 D の所定部位（ここでは、反応流路 5 D の下流端から上流側に 10 mm 離隔した位置）に、予め BSA に結合されたタイロシンを競合物質 14 として滴下し、常温・常圧で 30 分間乾燥させた後、さらに常温で真空乾燥を 15 分間行なって反応流路 5 D に固定化し反応部位 5 E を形成する。

【0089】そして、膜状部材（両面テープ）32 を中心にして中間基板 22、膜状部材 32、基板 21 を組み付けた後、これを、反応部位 5 E が形成された上記インジェクションボード 6 に膜状部材 31（両面テープ）を

介して組み付け、マイクロチャネルチップを組み立てた。その後、検体10として、タイロシン標準品を100 μ Lだけ注入口6Aから流路5Aに滴下するとともに、Ab-EuLTXを純水で100倍に希釈して標準物質12を調整し、この標準物質12を100 μ Lだけ注入口6Bから流路5Bに滴下する。次に、各注入口6A、6Bに、プレート71B、72Bを介してシリンジポンプ71、72をそれぞれ接続した後、シリンジポンプ71、72をそれぞれ作動させて、注入口6A、6Bの検体10及び標識物質12を10 μ L/分で反応流路5Dに向けて流通させる。図6に示すように、検体10中の測定対象物11と標識物質12とは、合流部位5Fで混合される(第1のステップ)。その後、反応部位5E上に移動して、標識物質12の内の測定対象物11と結合していないものが反応部位5Eに固定化された競合物質14と結合する(第2のステップ)。つまり、合流部位5F及び反応部位5Eにおいて、標識物質12に結合した特異的結合物質12Aに対し、測定対象物11と競合物質14とが競合して結合するのである。

【0090】次に、上記手順と同じ手順により、各流路5A、5Bにそれぞれ100 μ Lの純水を注入して流路5を洗浄し、図示しない測定装置により反応部位5Eに固定された標識物質12の量が測定される(第3のステップ)。この測定では、検体中の測定対象物濃度が低いほど、多くの競合物質14が特異的結合物質12Aを介して標識物質12と結合することとなる。つまり、検体中の測定対象物濃度が低いほど、競合物質14を介して反応部位5Eに固定される標識物質12の量が多くなるのである。したがって、第2実施形態と同様に、図5に示すように測定対象物濃度Cが高いほど標識物質の検出シグナルのレベルが低くなる。

(D) 第4実施形態の説明

次に本発明の第4実施形態のマイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及び測定方法について説明する。図7及び図8は本実施形態のマイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及び測定方法について示す図である。なお、上記各実施形態で既に説明したものについては同一の符号を付しその説明を省略する。

【0091】本マイクロチャネルチップは、図7に示すように構成され、図1に示す上述の各実施形態のマイクロチャネルチップに対し第3流路5Cが追加された構成となっており、3つの流路5A、5B、5Cが合流して反応流路5Dが形成されている。この追加された第3流路5Cは、第2流路5Bと略同様に構成されている。つまり、図7に示すように、インジェクションボード6に、穴部6Aの図中で右側に穴部(注入口)6Cが形成され、膜状部材31に、穴部31Bの図中で右側に穴部31Cが形成され、中間基板22に、穴部22A、22Bの図中で右側にそれぞれ穴部22C、22Dが形成さ

れ、さらには、膜状部材32に、切り抜き部32Aの図中で右側に切り抜き部32Bが形成されている。そして、注入口6C、穴部31C、穴部22C、切り抜き部32B、穴部22Dから第3流路5Cが形成され、第3流路5Cは穴部22Dにおいて第2流路5Bに合流している。

【0092】本マイクロチャネルチップでは、図8に示すように、第1流路5Aから検体10が注入され、第2流路5Bから、測定対象物11に特異的に結合する第1の特異的結合物質12Aを有する質標識物質12が注入され、第3流路5Cから連結物質(ビオチン化抗体)15が注入され、反応流路5Dの反応部位5Eには上記連結物質15と特異的に結合する固定化物質(ここではアビジン)16が固定化されている。

【0093】連結物質15は、測定対象物11に特異的に結合する第2の特異的結合物質13とビオチン15Aとが結合して構成され、ビオチン15Aは、反応部位5Eに固定された固定化物質としてのアビジン16と特異的に結合するものである。連結物質15及び固定化物質16は互いに特異的に結合しあう組み合わせであれば良く、このような組み合わせとしては、本実施形態のようにビオチンとアビジンとの組み合わせが入手のし易さから好ましい。

【0094】また、穴部(注入口)6Cには、外径6mmのシリコンチューブ、PDMS(ポリジメチルシロキサン)材により構成されるプレートを介してシリンジポンプ(流通制御手段)が接続されている(何れも図示略)。なお、流路5Cの流路幅WCは、ここでは2mm、通常0.1 μ m以上、3mm以下、好ましくは1mm以上、1mm以下である。また、流路長さLCは、ここでは14mm、通常100 μ m以上、100mm以下、好ましくは1mm以上、50mm以下である。

【0095】この他の構成は、上記実施形態と同様なのでその説明を省略する。本発明の第4実施形態としてのマイクロチャネルチップ及び測定装置は上述したよう構成されているので以下の手法(本発明の第4実施形態としての測定方法)により測定が行なわれる。つまり、図8を参照して説明すると、インジェクションボード6に接続された各シリンジポンプを作動させて、注入口6A、6B、6Cから検体10、標識物質12及び連結物質15を反応流路5Dに向けて流通させる。検体10中の測定対象物11、標識物質12及び連結物質15は、図8に示すように、合流部位5Fで混合され相互に結合し(第1のステップ)、その後、反応部位5E上に移動して、反応部位5Eに固定された固定化物質16とさらに結合する(第2のステップ)。そして、上記手順と同じ手順により、各流路5A、5B、5Cに100 μ Lの純水を流入させ流路5を洗浄する。

【0096】そして、図示しない測定装置により反応部位5Eに波長が365nmの紫外線を照射したところ、

反応部位5 Eに標識物質1 2に起因した赤色の蛍光が目視により観察され、検体1 0に測定対象物1 1が含まれていることが測定された(第3のステップ)。したがって、本実施形態のマイクロチャンネルチップ、測定装置及び測定方法によれば、上記実施形態の利点のほか、以下のような利点がある。

【0097】つまり、測定対象物1 1が変わると、これに応じて特異的結合物質1 2 A、1 3も異なる物質となるが、本発明では、特異的結合物質1 2 A、1 3を含む物質は、標識物質1 2と連結物質1 5である。即ち、測定対象物1 1によらず、反応部位5 Eに固定する固定化物質1 6を一定とすることができ、ひいては一つのマイクロチャンネルチップにおいて測定対象物1 1の種類を自由に変更できる(同一マイクロチャンネルチップで多種の測定対象物1 1を測定できる)利点がある。

【0098】具体例を挙げると、反応部位5 Eに固定する固定化物質1 6としてアビジンを使用するのであれば、上述したように測定対象物1 1としてTSHを測定する場合には、標識物質1 2として抗ヒトFSH- α サブユニット抗体、連結物質1 5としてビオチン化した抗TSH抗体をそれぞれ用いることでTSHを測定でき、測定対象物1 1としてhCGを測定する場合には、標識物質1 2として抗ヒトFSH- α サブユニット抗体、連結物質1 5としてビオチン化した抗hCG抗体を用いることでhCGを測定できる。

【0099】なお、本実施形態では、測定対象物1 1が、第1の特異的結合物質1 2 A及び連結物質1 5(ここでは詳細には第2の特異的結合物質1 3)と同時に結合できることが条件となる。また、第1の特異的結合物質1 2 Aと第2の特異的結合物質1 3とは互いに同じ物質であっても良いし、互いに異なる物質であっても良い。

【0100】また、上述の各実施形態では、連結物質1 5及び固定化物質1 6としてビオチン化抗体及びアビジンを使用した例を説明したが、ウサギ抗TSH抗体及びヤギ抗ウサギIgG抗体のような三次抗体を使用しても良い。具体的には、この場合、図9に示すように、測定対象物1 1及び標識物質1 2が、ウサギ抗TSH抗体(連結物質)1 5'及びヤギ抗ウサギIgG抗体(固定化物質)1 6'を介して反応部位5 Eに連結されることとなり、ウサギ抗TSH抗体1 5'が、上記実施形態における第二の特異的結合物質1 3及びビオチン1 5 Aを兼ねている構成となる。

【0101】このように三次抗体を使用する方法は、ビオチン及びアビジンを使用する程には高い汎用性はないが、三次抗体を使用すれば、抗体そのものを連結物質1 5として用いることができるので抗体にビオチンを結合させるステップを省略でき、測定系の調整を簡便化でき、さらに、抗体に修飾を加えることによる活性の低下を避けることができるようになる利点がある。

(F) 第5実施形態の説明

次に本発明の第5実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について説明する。図10は本実施形態のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法について示す図である。なお、上記各実施形態で既に説明したものについては同一の符号を付しその説明を省略する。

【0102】本実施形態のマイクロチャンネルチップは、図10に示すように構成されており、第4実施形態のマイクロチャンネルチップが1つの測定系統を有していたのに対し、3つの測定系統を有して3種類の検体に対し同時に測定を行なえるようになっている。具体的には、検体10を流通させる流路5 Aが平行に3列設けられており、各流路5 Aには、注入口6 Bから分岐して形成され標識物質を流通させる流路5 Bが合流し、注入口2 6から分岐して形成されpH調整用バッファを流通させる流路2 5が合流し、さらに、注入口6 Cから分岐して形成され連結物質1 5を流通させる流路5 Cが合流するようになっている。また、流路5 A、5 B、5 Cが合流して形成される反応流路5 Dには、それぞれ反応部位5 Eが設けられている。

【0103】そして、ここでは、流路5 A、5 C、2 5は同一水平面内に形成され、流路5 Bは上記水平面から外れて形成されている。また、注入口6 A、6 B、6 C、2 6にはそれぞれ図示しないシリジポンプが接続されており、これらのシリジポンプと、上記マイクロチップと、反応部位5 Eに結合した標識物質1 2の量を計測する図示しない測定装置とにより本実施形態の測定装置が構成される。

【0104】本発明の第5実施形態としてのマイクロチャンネルチップは上述したように構成されているので、上述した第4実施形態のマイクロチャンネルチップの利点に加え、3つの異なる検体10に対する測定を同時に行なえるという利点がある。図10に示すマイクロチャンネルチップと機能的に等価の構成を平面的に構成しようとすると(各流路を同一水平面内に配置しようとすると)、例えば図11に示すようになるが、図中にXで示す箇所に流路の交差が生じてしまう。即ち、このように平行に設けられた3つ以上の各流路に対し、1つの注入口から注入された試薬を分岐させて供給する場合、試薬の種類は2種類までに限定されてしまう。本実施形態のマイクロチャンネルチップでは流路を立体交差させることによりこのような規制にとらわれることなく3つ以上の各流路(ここでは3つ)に3種類以上(ここでは3種類)の試薬の供給することを可能にしている。

(H) その他

なお、本発明のマイクロチャンネルチップ、マイクロチャンネルチップを使用した測定装置及び測定方法は上述した実施形態に限定されず、発明の趣旨を逸脱しない範囲で

種々変形することが可能である。

【0105】例えば上述した第1実施形態～第5実施形態では、平面形状の積層部材6、31、22、32、21を積層することによりマイクロチャネルチップを構成したが、UV硬化樹脂などの光硬化樹脂を用いたりして、マイクロチャネルチップを一体物として造形することも可能である

また、上述の実施形態では、基板21、22に切り抜き部31A、32A等が貫設された膜状部材31、32を貼り付けることにより基板21、22上に流路5を設けるようにしているが、膜状部材31、32を用いずに基板21、22、6に溝（溝状の流路）を直接形成するようにしても良い。例えば、図12（A）、（B）に示すように流路5B、5Dをインジェクションボード6又は中間基板22に直接形成したり、図12（C）、（D）に示すように流路5A、5Cをチップ基板21又は中間基板22に直接形成したりしてもよい。或いは、図12（E）、（F）に示すように、流路5C、5Dをインジェクションボード6及び中間基板22の両方に直接形成したり、流路5A、5Cをチップ基板21及び中間基板22の両方に直接形成したりしてもよい。

【0106】流路をインジェクションボード6、中間基板22、チップ基板21の何れに設けるかは種々の条件に応じて適宜選択される。例えばインジェクションボード6側から反応部位5Eに固定化された標準物質12の量を光学的に測定すべくインジェクションボード6に透明度の高い石英を用いる場合は、石英（インジェクションボード6）はエッチングや掘削等により溝を形成するのが困難であるため、中間基板22にエッチングや掘削等を行ないやすい樹脂材を用いられこの中間基板22側に流路が形成される。

【0107】このように、基板21、22、6に溝を直接形成する方法としては、例えば、切削、研磨等の機械加工や、リソグラフィーを用いて形態制御した後、ドライエッチング（例えば電子ビーム、X線照射、DRIE）、ウェットエッチング、放電加工、レーザーアブレーション等のように溝部を形成する方法や、先ずフォトリソグラフィーによって溝部形状をマスクに描画してから、この描画に基づいて上述のドライエッチング、ウェットエッチング、放電加工、レーザーアブレーションにより基板21、22、6の所定の部位を除去して溝部を形成する方法や、さらに、スタンプ、圧縮成型、射出成型等を使用した転写技術がある。

【0108】或いは、基板21、22、6を成型する際に同時に流路を成型することもでき、このような基板21、22、6の成型方法としては、例えば鋳型による成型がある。また、光硬化性を有する樹脂を使用して光造形により基板21、22、6及びかかる流路を同時に成型することもできる。このような場合、流路の設計と、基板21、22、6及び流路の製作とを、コンピュータ

制御により同時に行なうことも可能である。

【0109】また、上述した方法を組み合わせて基板21、22、6に流路を成形するようにしても良い。また、上述したように基板21、22、6の材質は広く選択できるので、このような流路加工には、この他の公知の微細加工技術を使用できる。なお、このように基板21、22、6に流路を直接形成する場合も、膜状部材31、32をチップ基板21、22に貼り付けて流路を形成する場合と同様に、流路の深さは、上限は、反応効率の点から、400μm以下、好ましくは200μm以下であり、下限は、加工の容易性や、底部に固定される特異的結合物質13の厚みを考慮すると、0.1μm以上にするのが一般的である。

【0110】また、この場合も、各流路WA～WDの幅は、通常0.1μm以上、3mm以下、好ましくは1μm以上、1mm以下である。また、流路長さLA、LB、LCは、通常100μm以上、100mm以下、好ましくは1mm以上、50mm以下である。また、流路長さLDに関しては、通常1mm以上、1000mm以下、好ましくは3mm以上、500mm以下である。

【0111】また、上述の各実施形態では、反応部位5Eはそれぞれ図1（A）及び図7（A）に示すようにインジェクションボード6に設けられているが、反応部位5Eは反応流路5Dを形成する固相壁面に設けられていれば良く、チップ基板22に反応流路5Dに面して設けても良い。反応部位5Eを、インジェクションボード6及びチップ基板22のどちらに設けるかは、種々の条件に応じて適宜決定されるものである。例えば、流路5を機械加工によりチップ基板22に直接形成する場合は、インジェクションボード6に反応部位5Eを設けるのが好ましい。つまり、チップ基板22の素材として、第1の特異的結合物質等の固定化効率にとらわれずに機械加工し易い素材（例えばpMMA材）を選択し、一方、インジェクションボード6の素材に上記固定化効率の良いポリスチレンを選択するのである。

【0112】また、電気化学測定等を行なうべく特に何らかの素子（例えば電極）をインジェクションボード6に埋め込む場合は、このインジェクションボード6の構造がより複雑になってしまわないように、また、素子の集積度を上げるために、反応部位5Eがチップ基板22に設けられるのが望ましい。また、マイクロチャネルチップを使用した測定装置として、測定手段の出力結果を出力する印刷機やモニタ等のような測定結果出力手段をさらにそなえて構成するようにしてもよい。

【0113】また、上述の各実施形態では、反応流路5Dに反応部位5Eを1箇所だけ設けた構成としているが反応部位を反応流路5Dに複数設けた構成としても良い。この場合、これらの複数の反応部位を、チップ基板22及びインジェクションボード6の何れか一方だけに設けるようにしても良いし、チップ基板22及びインジ

ェクションボード6の両方に設けるようにしても良い。

【0114】また、上述の実施形態では、検体10に測定対象物11が含まれているか否かをオンオフ的に検出するようにしているが、検体10中に測定対象物11がどれだけ含まれているかを標識物質の蛍光量等から定量的に測定するようにしてもよい。また、本発明のマイクロチャネルチップ、マイクロチャネルチップを使用した測定装置及び測定方法は、生体由来の試料（例えば血液や体液）に含まれる測定対象物を測定／検出する医療診断や、海・河川や大気等に含まれる環境汚染物質を測定／検出する環境診断や、各種研究に用いられる測定等に幅広く適用できるものである。

【0115】

【発明の効果】以上詳述したように、請求項1記載の本発明のマイクロチャネルチップ及び請求項11記載の本発明のマイクロチャネルチップを使用した測定方法によれば、反応部位に固定された標識物質に関して測定を行なうことにより測定対象物に関する測定を容易に行なうことが可能となる。また、検体及び標識物質を第1流路及び第2流路にそれぞれ流通させてこれらの検体及び標識物質を反応流路で合流させて結合させるので、検体中の測定対象物及び標識物質の反応が液相同士の反応となる。液相同士の反応は、反応速度が高く反応率も高いので、反応時間を短縮して測定を効率的に行なえるという利点がある。

【0116】さらに、検体及び標識物質を第1流路及び第2流路にそれぞれ同時に流通させることにより、検体及び標識物質連結物質を一つの流路に順次流通させるのに比べ測定に要する時間を短縮でき、この点からも測定を効率的に行なえるという利点がある。また、第1流路、第2流路及び反応流路が立体的に配置されているので、上記混合距離を、鉛直方向、即ち深さ方向に沿って形成することができ、この場合、反応流路を浅くするほど高い混合性能が得られることとなる。反応流路を浅くするのは加工が容易になる方向であり、したがって、反応流路を浅く形成し、一般的に混合しにくいといわれる検体と標識物質とを十分に混合することが可能となる利点がある。

【0117】請求項2及び請求項3記載の本発明のマイクロチャネルチップ及び請求項11記載の本発明のマイクロチャネルチップを使用した測定方法では、競合物質と測定対象物とが競合して特異的結合物質と結合し、検体の測定対象物濃度が高いほど反応部位に結合する標識物質の量が減少することとなり、この関係を利用することにより反応部位に結合した標識物質について測定を行なうことで測定対象物に関する測定を行なえる。

【0118】非競合法による測定では測定対象物は複数の特異的結合物質と同時に結合する必要があったが、本発明における測定では、測定対象物は1以上の特異的結合物質と同時に結合できればよく、したがって非競合法

による測定よりも多種の特異的結合物質に関する測定を行なえ、汎用性を拡大できるという利点がある。請求項4及び請求項7記載の本発明のマイクロチャネルチップでは、第1流路と第2流路とが略鉛直方向に沿って相対的に接近／集合し反応流路を形成するように構成されている。検体と標識物質とが混合するのに必要な分子の拡散移動の距離（混合距離）が短いほど検体と標識物質とが混合し易いが、本マイクロチャネルチップでは、上記混合距離が、鉛直方向、即ち深さ方向に沿って形成され、したがって反応流路を浅くするほど高い混合性能が得られる。反応流路を浅くするのは加工が容易になる方向であり、したがって、反応流路を浅く形成し、一般的に混合しにくいといわれる検体と標識物質とを十分に混合することが可能となる利点がある。

【0119】請求項5及び請求項8記載の本発明のマイクロチャネルチップでは、複数の積層部材を積層することにより形成されるので、二次元的に加工を施した積層部材を積層することにより立体的に流路を配設することが可能となり、容易に製造できるという利点がある。また、素材を広く選択できるので、分光測定における最適化を図って測定精度を向上させることができ、さらに、種々の検出素子の組み込みが可能となるという利点がある。

【0120】また、反応流路に反応部位を設けるが、少なくとも製造中において反応流路は外方が開放された状態となるので、この開放部から反応流路に反応部位を設けるのが容易になって、マイクロチャネルチップの製作を簡便化できるという利点がある。また、マイクロチャネルチップの製作が容易であり、且つ検体、標識物質などの流通を多様に制御できるので、測定対象物及び標識物質などの反応系を、高度且つ多様に設定できるという利点がある。

【0121】請求項6記載の本発明のマイクロチャネルチップ及び請求項12記載の本発明のマイクロチャネルチップを使用した測定方法によれば、標識物質、連結物質及び固定化物質の内、測定対象物の特異的に結合するのは、標識物質、連結物質であり、したがって、これらの標識物質、連結物質を測定対象物に応じて変えることにより、反応部位に固定する固定化物質を変えることなく1つのマイクロチャネルチップにより多種の測定対象物の測定を行なうことが可能になるという利点がある。

【0122】請求項9及び10記載の本発明のマイクロチャネルチップを使用した測定装置によれば、流通制御手段により、検体及び標識物質などの流通を制御するので、検体及び標識物質などの流速を、測定に最適な流速にして測定を効率的に行なえるという利点がある。また、適宜に流通状態（流速、流通方向等）を制御でき、広い態様で測定を行なえるという利点がある。さらに、測定対象物の種類に応じて流通制御手段により流速を適宜に調整することにより、様々な種類の測定対象物を一

つの仕様のマイクロチャネルチップにより最適な流通状態で測定でき、汎用性を拡大できるという利点がある。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明の第 1 実施形態としてのマイクロチャネルチップ及び測定装置について示す図であり、(A) はマイクロチャネルチップ及び測定装置の構成を拡大して示す模式的な斜視分解図、(B) はインジェクションボード（被覆部材）を外した状態のマイクロチャネルチップの構成を拡大して示す模式的な平面図である。

【図 2】本発明の第 1 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法における測定原理を説明するための模式図である。

【図 3】本発明の第 1 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法の効果を説明するための図であり、(A) は流路 5 A、5 B、5 C を同一水平面に形成した場合の混合距離を示す模式的な平面図、

(B) は流路 5 A、5 B、5 C を立体的に配置した場合の混合距離を示す模式的な側面図である。

【図 4】本発明の第 2 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法における測定原理を説明するための模式図である。

【図 5】本発明の第 2 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法にかかる検体中の測定濃度と反応部位における標識物質の検出シグナルとの関係を示す図である。

【図 6】本発明の第 3 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法における測定原理を説明するための模式図である。

【図 7】本発明の第 4 実施形態としてのマイクロチャネルチップ及び測定装置について示す図であり、(A) はマイクロチャネルチップ及び測定装置の構成を拡大して示す模式的な斜視分解図、(B) はインジェクションボード（被覆部材）を外した状態のマイクロチャネルチップの構成を拡大して示す模式的な平面図である。

【図 8】本発明の第 4 実施形態としてのマイクロチャネルチップ、測定装置及び測定方法における測定原理を説明するための模式図である。

【図 9】本発明の他の実施形態としての連結物質及び固定化物質の構成を説明するための模式図である。

【図 10】本発明の第 5 実施形態としてのマイクロチャネルチップ及び測定装置の構成を示す模式図である。

【図 11】本発明の第 5 実施形態としてのマイクロチャネルチップ及び測定装置の効果を説明するための比較例の構成を示す模式図である。

【図 12】(A) ～ (F) は本発明の他の実施形態としてのマイクロチャネルチップにかかる流路の模式的な横断面図である

【符号の説明】

5 流路

5 A 第 1 流路

5 B 第 2 流路

5 C 第 3 流路

5 D 反応流路

5 E 反応部位

5 F 合流部位（混合部位）

5 G、5 H 流路

6 インジェクションボード（積層部材、被覆部材）

6 A、6 B、6 C、6 E、26 注入口

6 D、6 F 排出口

10 検体

11 測定対象物

12、12' 標識物質

12 A 第 1 の特異的結合物質

13 第 2 の特異的結合物質

14 競合物質

15、15' 連結物質

16、16' 固定化物質

21 チップ基板（積層部材）

22 中間基板（積層部材）

22 A、22 B、22 C、22 D 穴部

31、32 膜状部材（積層部材）

31 A、32 A、32 B 切り抜き部

32 A a、32 A b 切り抜き部の端部

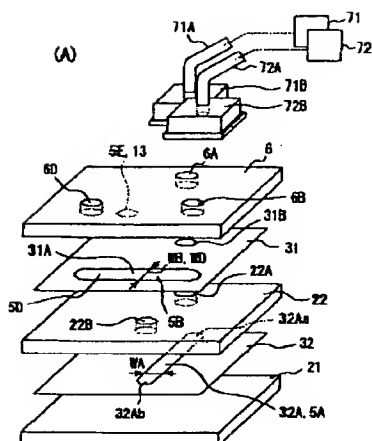
31 B、31 C 穴部

71、72、73、74 シリンジポンプ

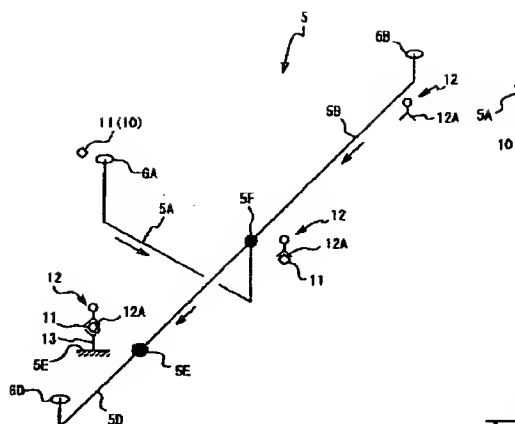
71 B、72 B プレート

71 A、72 A シリコンチューブ

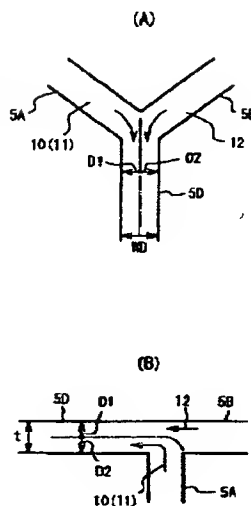
【図1】



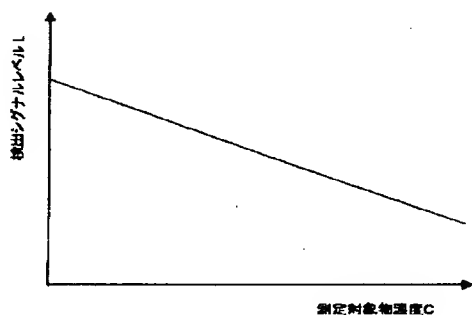
【図2】



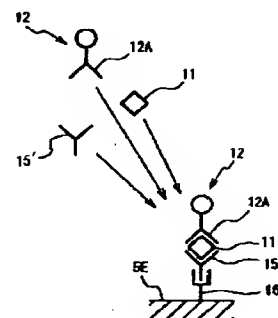
【図3】



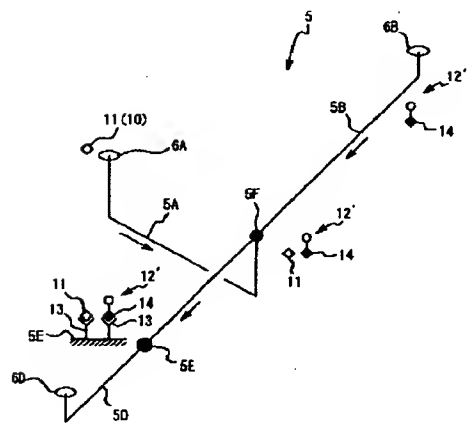
【図5】



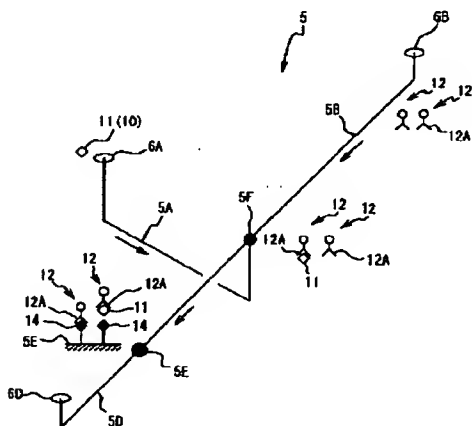
【図9】



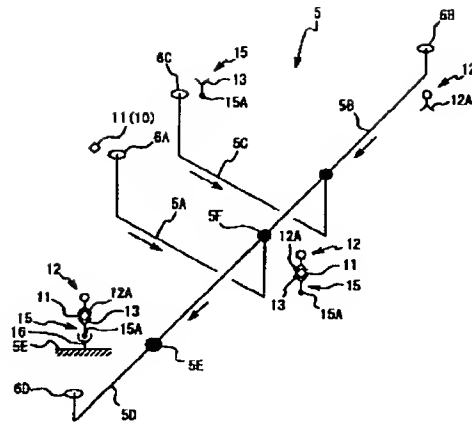
【図4】



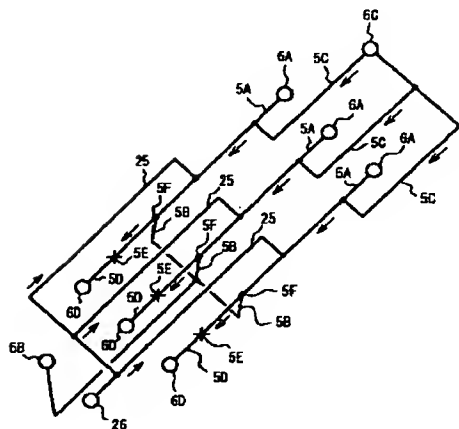
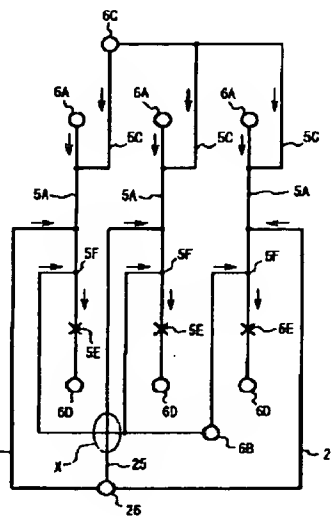
【図6】



【図 8】



【圖 12】



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-114229
 (43)Date of publication of application : 18.04.2003

*English abstract
 of Document 4*

(51)Int.Cl.

G01N 33/543
 G01N 31/20
 G01N 37/00

(21)Application number : 2001-307946

(71)Applicant : MITSUBISHI CHEMICALS CORP

(22)Date of filing : 03.10.2001

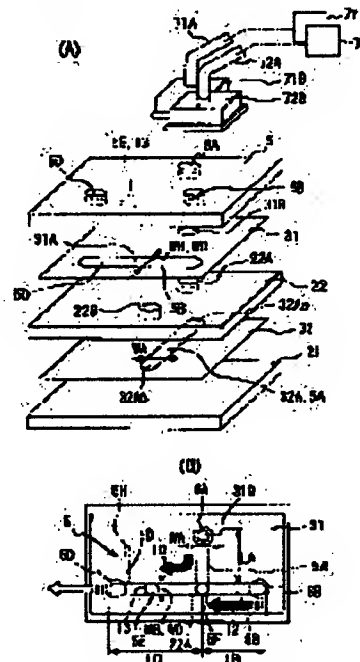
(72)Inventor : ISOMURA SATORU
 TAKAYAMA EIJI

(54) MICROCHANNEL CHIP, MEASURING DEVICE AND MEASURING METHOD USING MICROCHANNEL CHIP

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a microchannel chip, and a measuring device and a measuring method using the microchannel chip capable of simplifying manufacture thereof, measuring efficiently and accurately, and enlarging versatility.

SOLUTION: This microchannel chip for measuring a measuring object in a specimen 10 comprises a chip body, a first fine passage 5A provided in the chip body, for passing the specimen, a second fine passage 5B provided in the chip body, for passing a labeling material 12 having a first specifically bonding material to be bonded specifically with the measuring object, a fine reaction passage 5D provided in the chip body and formed by assembling the first passage 5A and the second passage 5B together, and a reaction site 5E provided in the reaction passage 5D having a second specifically bonding material immobilized thereon to be bonded specifically with the measuring object. In the chip, the first passage 5A, the second passage 5B and the reaction passage 5D are arranged stereoscopically.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.